

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 988**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/39** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**A61K 31/737** (2006.01)

**A61K 36/736** (2006.01)

**A23L 33/105** (2006.01)

**A23L 33/18** (2006.01)

**A61K 31/375** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2015** **E 15152822 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019** **EP 3053458**

54 Título: **Composición secada por pulverización que comprende un extracto de fruto de acerola, colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.06.2020**

73 Titular/es:

**PANINKRET CHEMISCH-PHARMAZEUTISCHES  
WERK GMBH (100.0%)  
Bahnhofstraße 20  
25364 Westerhorn, DE**

72 Inventor/es:

**KLÜWER, PER**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 768 988 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición secada por pulverización que comprende un extracto de fruto de acerola, colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato.

5

**Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a un método según las reivindicaciones 1 a 4 para la preparación de una composición secada mediante pulverización que comprende un extracto de fruto de acerola y colágeno hidrolizado, comprendiendo el método las etapas de mezclar un extracto líquido de fruto de acerola obtenido mediante prensado de un fruto de acerola, y un fluido que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y por lo menos 5% en peso del condroitín sulfato fluido y el secado por pulverización de la mezcla. Adicionalmente, la invención se refiere además a una composición secada mediante pulverización según las reivindicaciones 5 a 8 preparada mediante dicho método, tal como una composición que comprende: (a) colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato, y (b) extracto de fruto de acerola que comprende vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo de fruto de acerola, en el que la composición preferentemente no comprende ningún portador de secado por pulverización aparte del colágeno hidrolizado, en particular nada de maltodextrina, almidón oxidado o lactosa.

10

15

**Antecedentes de la técnica**

El ejercicio físico, una edad avanzada o el sobrepeso se asocian con frecuencia a un deterioro de la salud articular. En particular, las articulaciones cartilaginosas presentan un riesgo de deterioro al tensarlas más allá de su capacidad. La pérdida de cartílago en las articulaciones puede dañar las articulaciones y llevar a enfermedades secundarias, tales como la artritis. Por lo tanto, existe una necesidad de complementos nutricionales que ayuden a la formación y/o metabolismo del cartílago.

25

Se ha demostrado en la técnica que la ingesta de colágeno de tipo II hidrolizado ayuda a proteger las articulaciones y reduce el riesgo de problemas articulares (Benito-Ruiz et al., *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 60(S2):99-113, 2009. Además, un estudio por Clark et al. han demostrado que el hidrolizado de colágeno mejora la salud articulares en atletas, que puede reducirse el dolor debido a una actividad atlética elevada (Cur. Med. Res. Op. 24(5):1485-1496, 2008).

30

El colágeno de tipo II es uno de los colágenos formadores de fibra y se encuentra principalmente en cartílago. Los colágenos contribuyen aproximadamente 60% del peso seco del cartílago. El colágeno de tipo II está compuesto de fibrillas fuertes, estabilizadas mediante puentes disulfuro, y constituido de cadenas polipeptídicas retorcidas. La estructura única del colágeno de tipo II proporciona un compuesto articular elástico.

35

La complementación de la dieta con colágeno de tipo II para la salud del cartílago articular se ha propuesto en la técnica debido a que el colágeno es capaz de proporcionar los aminoácidos únicos hidroxiprolina e hidroxilisina que no se encuentran en otras proteínas animales o humanas.

40

Sin embargo, la absorción del colágeno de longitud completa ingerido oralmente es reducida. La desventaja puede evitarse mediante hidrólisis del colágeno, dando como resultado un colágeno hidrolizado muy absorbible. El hidrolizado de colágeno es un complemento nutricional que se ha demostrado que ejerce un efecto anabólico sobre el tejido del cartílago y aparentemente resulta beneficioso en pacientes con osteoartritis. Se ha demostrado preclínicamente que el hidrolizado de colágeno pasa a través de la barrera mucosa en el intestino delgado, se acumula en el tejido de cartílago y estimula la producción de colágeno de tipo II, que es la proteína principal en el colágeno articular, y de proteoglicanos en la matriz extracelular del cartílago (Oesser et al., *J. Nutr.*, 1891-5, 1999; Oesser et al., *Cell Tissue Res.*, 311: 393-9, 2003; Oesser et al., *Orthopaedische Praxis*, 565-8, 2005). Adicionalmente, varios estudios clínicos proporcionan pruebas de un efecto beneficioso de la administración del hidrolizado e colágeno sobre la salud articular en una diversidad de poblaciones de pacientes, tales como las pacientes con osteoartritis o dolor articular relacionado con el ejercicio (por ejemplo, Moskowitz, *Semin Arthritis Rheum*, 30: 87-99, 2000; Zuckley et al., *Med. Sci. Sports Exerc.*, 37(supl):S 153-S4, 2004).

45

50

Habitualmente, el hidrolizado de colágeno está constituido por tejido de colágeno procedente de fuentes porcinas, tales como hueso, piel y recortes de piel, sometiendo estas fuentes a hidrólisis enzimática y posterior purificación.

55

La vitamina C desempeña un papel clave en la biosíntesis y mantenimiento de los tejidos de colágeno, así como en la formación de huesos, dientes, músculos y piel, y resulta esencial para la biosíntesis del colágeno (Naidu, *Nutr. J.*, 7-16, 2003). Por lo tanto, resultaría ventajoso proporcionar colágeno hidrolizado en combinación con vitamina C. La vitamina C es un cofactor para varios enzimas que requieren iones de metal de transición, tal como para la prolil hidroxilasa, que resulta esencial para la síntesis del colágeno en mamíferos. En la reacción relevante, se utiliza la vitamina C como cofactor para reducir el ion hierro Fe<sup>3+</sup> al estado ferroso (Fe<sup>2+</sup>), manteniendo de esta manera activo el enzima prolilhidroxilasa. Por lo tanto, la vitamina C resulta esencial para el mantenimiento de tejido conectivo sano. Además, la vitamina C presentar varias otras funciones importantes que lo convierten en particularmente adecuado como aditivo para un complemento alimenticio. Por ejemplo, la vitamina C actúa como

60

65

un antioxidante en la conservación de, por ejemplo, frutos y piensos secos y congelados, concretamente en zumos, o después del consumo en el cuerpo del mamífero, en donde la vitamina C actúa como protector frente al estrés oxidativo. La vitamina también es importante para el sistema inmunitario y, si el cuerpo no recibe un suministro adecuado de vitamina C, las consecuencias son la retracción de las encías, la pérdida de dientes, la debilidad vascular y el sangrado (todos asociados a una síntesis alterada del colágeno debido a la carencia de vitamina C). Además, la vitamina C también incrementa la absorción del hierro.

Debido a que la utilización de complementos alimenticios sintéticos últimamente se ha desprestigiado entre los consumidores, resulta deseable proporcionar colágeno hidrolizado en combinación con vitamina C natural. En particular, la vitamina C sintética, que consiste principalmente en ácido ascórbico aislado, se cree que no resulta tan eficaz como la vitamina C natural. La vitamina C natural no sólo se cree que presenta una biodisponibilidad más elevada, sino que también se ve acompañada de sustancias positivas adicionales, tales como compuestos vegetales secundarios. Además, la vitamina C natural puede añadirse durante la manufacturación del producto sin pérdida del derecho a etiquetar el producto como producto de "etiqueta limpia". Un modo de proporcionar niveles elevados de vitamina C natural es la utilización de extractos de cereza acerola, que es particularmente rica en vitamina C. Aunque la acerola ya se utiliza con frecuencia en Sudamérica y Japón, los EE.UU. y Europa todavía son grandes mercados potenciales por explorar.

Debido a que la vitamina C se deteriora con rapidez, en particular en solución, resulta ventajoso proporcionar complementos alimenticios que contienen vitamina C en forma seca, por ejemplo en una forma secada mediante pulverización. También se conservan otras sustancias nutricionales comprendidas en acerola, mediante el secado formando unos polvos. Además, una forma seca permite una dosificación precisa de una cantidad suficiente de vitamina C y colágeno hidrolizado. El complemento alimenticio seco resulta, además, más adecuado para la preparación de varios productos alimenticios diferentes (por ejemplo, barras nutritivas) que una solución que comprende vitamina C y colágeno. Otra ventaja de la forma de polvos secos es el peso y volumen reducidos para el transporte.

El documento nº WO2009/080778 da a conocer la utilización de colágeno hidrolizado como agente de secado protector en la preparación de unos polvos de extracto vegetal secados mediante pulverización, tal como extracto de rosa mosqueta, extracto de tomillo y extracto de saliva.

El documento nº US2003/091652 da a conocer polvos que comprenden hidrolizado de colágeno de tipo II secado por pulverización que comprende condroitín sulfato mezclado con vitamina C.

Sin embargo, los métodos de secado tradicionales, tales como el secado por pulverización o secador de banda de vacío presentan diferentes desventajas. Por ejemplo, un extracto de fruto de acerola secado por pulverización de acuerdo con métodos tradicionales de secado por pulverización comprendería portadores de secado por pulverización, tales como maltodextrina, que reducen el contenido de vitamina C natural en el complemento alimenticio final considerablemente y presentan un valor nutritivo muy bajo. Dichos portadores con frecuencia también afectan negativamente al sabor de los extractos secos y se cree que potencialmente presentan efectos secundarios negativos. En el caso de que el extracto de fruto de acerola se seque mediante otros medios, por ejemplo mediante secado en banda de vacío, el granulado resultante es menos fino que después del secado por pulverización. Después del secado en banda de vacío, por lo tanto, los polvos deberían molerse para conseguir un grado comparable de finura. Sin embargo, la molinada crea calor e incrementa la higroscopicidad, que a su vez incrementa el apelmazamiento de los polvos. Además, el secado por pulverización resulta más adecuado para proporcionar un producto que cumpla exactamente con los estándares de calidad referentes a la distribución de tamaños de partícula, contenido de humedad residual, densidad aparente y morfología (Patel et al., Ind. J. Sci. Techn., 2(10):44-47, 2009), así como buen flujo, buena solubilidad y baja higroscopicidad.

En resumen, puede concluirse que existe una necesidad en la técnica de composiciones de polvos estables que comprenden colágeno hidrolizado y niveles elevados de vitamina C natural con sabor neutro o buen sabor.

### Descripción de la invención

En el contexto de la presente invención, inesperadamente se ha encontrado que el hidrolizado de colágeno puede servir de portador de secado por pulverización para el extracto de fruto de acerola sin la adición de los habituales y nutritivamente ineficaces portadores de secado por pulverización, tales como maltodextrina, lactosa o almidón oxidado.

De esta manera, la invención proporciona una combinación de colágeno altamente biodisponible y vitamina C natural como cofactor tal como se presenta en las reivindicaciones adjuntas, que contiene además sólo componentes naturales valiosos y deseados. La composición secada por pulverización según la presente invención tal como se presenta en la reivindicación 5, es más compacta que los productos de la técnica anterior y puede procesarse sin aditivos en productos denominados "de etiquetado limpio". Además, la concentración de vitamina C natural en la composición es particularmente elevada, tal como de aproximadamente 4% en peso, mientras que

los productos de la técnica anterior contienen habitualmente menos vitamina C y/o un nivel elevado de vitamina C sintética.

5 Por lo tanto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición secada por pulverización que comprende un extracto de fruto de acerola y colágeno hidrolizado, comprendiendo el método las etapas de (a) mezclar un extracto líquido de fruto de acerola obtenido mediante el prensado de un fruto de acerola y un fluido que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y por lo menos 5% en peso del condroitín sulfato fluido, y (b) secado por pulverización de la mezcla. El colágeno hidrolizado es colágeno de tipo II hidrolizado, es decir, colágeno de tipo II hidrolizado comprendido en material derivado de cartílago. El extracto líquido de fruto de acerola comprende 10 vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo del fruto de acerola.

15 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición secada por pulverización según la reivindicación 5, que puede obtenerse según el método que comprende: (a) material derivado de cartílago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato, y (b) extracto de fruto de acerola que comprende vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo de fruto de acerola. Dicha composición secada por pulverización preferentemente no comprenderá ningún portador de secado por pulverización aparte de los compuestos comprendidos en el material derivado de cartílago o (potencialmente) en el extracto de fruto de acerola. En particular, la presente invención se refiere a una composición secada por pulverización tal como se ha indicado anteriormente, en la que la composición no comprende maltodextrina, lactosa o almidón oxidado. Preferentemente, la composición secada por pulverización según la presente invención 20 consiste en un extracto de fruto de acerola (que comprende vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo de fruto de acerola) y material derivado de cartílago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato. En la presente forma de realización, las composiciones no comprenden compuestos o ingredientes adicionales, proporcionando de esta manera una concentración máxima de los 25 compuestos beneficiosos comprendidos en el extracto de fruto de acerola y el material derivado de cartílago.

Una composición secada por pulverización en el contexto de la presente invención es una composición que ha sido secada mediante una técnica de secado por pulverización. Durante el secado por pulverización, se pulveriza una corriente de entrada líquida por una boquilla (se atomiza) en una corriente de aire caliente y se vaporiza. 30 Debido al calor, la humedad comprendida en las gotas de vapor se evapora rápidamente, quedando los polvos secados por pulverización sólidos. Las técnicas y aparatos de secado por pulverización son bien conocidos en la técnica (comparar, por ejemplo, Patel et al., Ind. J. Sci. Techn. 2(10):44-47, 2009) y se describen en detalle a continuación en la presente memoria.

35 Como resultado del procedimiento de secado por pulverización, la composición secada por pulverización de la invención son unos polvos, en particular unos polvos secos. La composición secada por pulverización presenta un contenido de humedad bajo. La composición secada por pulverización habitualmente presentará un contenido de humedad inferior a aproximadamente 6% en peso, habitualmente inferior a aproximadamente 5% en peso y preferentemente inferior a aproximadamente 4% en peso. En una forma de realización particularmente preferente, 40 el contenido de humedad es inferior a aproximadamente 3% en peso. Es decir, la composición secada por pulverización presenta un contenido de humedad de entre 0% y 6% en peso, preferentemente de entre 0% y 5% en peso, más preferentemente de entre 0% y 4% en peso. En una forma de realización particularmente preferente, la composición secada por pulverización presenta un contenido de humedad que es de entre 0% y 3%.

45 La forma de polvos secos de la composición según la reivindicación 5 consiste en partículas que comprenden todos los compuestos del zumo del fruto de acerola, condroitín sulfato y material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado.

50 El procedimiento de secado por pulverización se lleva a cabo bajo condiciones que dan como resultado unos polvos secos finamente divididos sustancialmente amorfos que consisten esencialmente en partículas en el intervalo de tamaños deseado que se señala posteriormente. Consistente "esencialmente" en el presente contexto se refiere a que por lo menos 85%, preferentemente por lo menos 90%, preferentemente por lo menos 95% de todas las partículas en la composición secada por pulverización se encuentran comprendidos dentro del intervalo de tamaños indicado. Preferentemente, la composición secada por pulverización consiste esencialmente en partículas 55 con un tamaño inferior a aproximadamente 300  $\mu\text{m}$  de diámetro medio, más preferentemente inferior a aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ , todavía más preferentemente inferior a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ . En una forma de realización particularmente preferente, la composición consiste esencialmente en partículas con un tamaño en el intervalo de entre aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de diámetro medio, más preferentemente en el intervalo de entre aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 200  $\mu\text{m}$  de diámetro medio.

60 Debido al procedimiento de secado por pulverización, los polvos son suficientemente finos para que no resulte necesaria ninguna etapa adicional de trituración. De esta manera, preferentemente no se lleva a cabo ninguna etapa de trituración después de la etapa b) durante el método de la invención. En consecuencia, los polvos no se exponen a la humedad del aire en una etapa adicional de trituración, reduciendo de esta manera el riesgo de aglutinación/apelmazamiento. De esta manera, las composiciones secadas por pulverización de la invención no 65 comprenden sustancialmente ningún grumo o muy pocos. Lo anterior significa que menos de 20%, 15%, 10%, 5%,

4%, 3%, 2% o 1% en peso de la materia seca en las composiciones secadas por pulverización se encuentran apelmazado (al almacenarlo sellado, por ejemplo bajo vacío, por ejemplo tras el almacenamiento durante 1 semana, 1 mes o 1 año). Preferentemente menos de 5% en peso de la materia seca en las composiciones secadas por pulverización se encuentra apelmazado. Más preferentemente, menos de 1% en peso de la materia seca se encuentra apelmazado en las composiciones secadas por pulverización.

La acerola es un arbusto fructífero tropical que pertenece al género *Malpighia* y actualmente se conoce con el nombre científico *Malpighia emarginata* D.C., aunque otros nombres, tales como *Malpighia glabra* L. y *Malpighia puniceifolia*, han sido utilizados anteriormente como sinónimos para la planta. El extracto de fruto de acero según la presente invención puede obtenerse de diferentes especies/variedades del género *Malpighia*. Sin embargo, resulta particularmente preferente que el extracto se manufacture a partir de plantas de la especie *Malpighia emarginata* (*Malpighia glabra* L., *Malpighia puniceifolia*).

El extracto se obtiene rompiendo las células de un fruto de la planta de la especie *Malpighia emarginata* mediante prensado del fruto de la acerola. El fruto de la acerola es drupáceo, con una forma redonda a cónica y color rojo, violeta o amarillo cuando está maduro. Los métodos para la preparación de los extractos del fruto de la acerola son bien conocidos en la técnica. En una forma de realización de la exposición, se proporciona material de un fruto de la acerola. Las materias primas adecuadas son frutos de acerola en cualquier estado de desarrollo de la maduración del fruto. El fruto de la acerola en el contexto de la presente invención puede ser de inmaduro a maduro. Es conocido que el contenido de vitamina C se reduce en el fruto de la acerola durante el proceso de maduración. Por ejemplo, mientras que el fruto de acerola inmaduro presenta un contenido de ácido ascórbico de, por ejemplo, aproximadamente 2400 mg 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca, el contenido en el fruto maduro es de, por ejemplo, aproximadamente 950 mg 100 mg<sup>-1</sup> de pulpa fresca Assis et al., *Fruits*, 63(2):93-101, 2008). Por otra parte, es conocido que el fruto maduro posee un mejor sabor y un color más atractivo. Por lo tanto, resulta preferente que el extracto de fruto de acerola se obtenga a partir de una mezcla de frutos de acerola que comprenden frutos inmaduros además de frutos maduros. De esta manera, puede conseguir un producto secado por pulverización que presenta un buen sabor, un contenido elevado de vitamina C natural y un color atractivo. Se entenderá que la vitamina C comprendida en el extracto de acerola procede del fruto de la acerola, es decir, se deriva de acerola. Lo anterior significa que la vitamina C comprendida en el extracto de acerola es vitamina C natural tal como se define en otros sitios en la presente memoria.

Aparte del elevado contenido de vitamina C, la acerola también es rica en pectina y enzimas pectolíticas, antioxidantes tales como carotenoides, fibra vegetal, vitaminas, tales como vitamina B, y varias sustancias biofuncionales, tiamina, riboflavina, niacina, proteínas y sales minerales (Assis et al., *Fruits*, 63(2):93-101, 2008). Como resultado del procedimiento de producción descrito en otros sitios en la presente memoria, el extracto de fruto de acerola según la presente invención comprende una mezcla de diferentes compuestos que originalmente estaban comprendidos en el fruto de la acerola. Dichos compuestos se denominan "compuestos procedentes del extracto de fruto de acerola" en la presente memoria. De acuerdo con lo anterior, el extracto (líquido) del fruto de la acerola comprende además uno o varios compuestos seleccionados de entre el grupo que consiste en las vitaminas C, A, B1, B2, B3, carotenoides y bioflavonoides.

En consecuencia, tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "extracto de fruto de acerola" describe una mezcla de diferentes sustancias/compuestos del fruto de la acerola (es decir, sustancias/compuestos que están comprendidos en el fruto de la acerola). Una composición que consiste en vitamina C aislada no se encuentra comprendida en la expresión "extracto de fruto de acerola" tal como se utiliza en la presente memoria tal como entenderá el experto en la materia. Lo anterior significa que el extracto de fruto de acerola comprende vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo del fruto de la acerola. Entre otros compuestos procedentes del fruto de la acerola que son vitaminas se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina (vitamina B3), ácido pantoténico (B5), vitamina B6, folato (B9) y similares. Sin embargo, resulta preferente que el extracto del fruto de acerola sea un extracto de frutos enteros. Un extracto de frutos enteros comprende esencialmente todos los compuestos que están comprendidos en la pulpa del fruto de la acerola. De esta manera, más específicamente, resulta preferente que el extracto de fruto de acerola sea un extracto de la pulpa de frutos enteros.

Lo anterior significa que el extracto de fruto de acerola comprendido en las composiciones secadas por pulverización de la invención comprende todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo del fruto de la acerola. La expresión "compuestos diferentes" se refiere a compuestos que difieren en su estructura química, es decir, a diferentes tipos de compuesto. Aunque se eliminan las moléculas de agua en el extracto durante el procedimiento de secado por pulverización, se conservan compuestos adicionales que están comprendidos en el zumo del fruto durante el procedimiento de secado por pulverización y forman la composición secada por pulverización (polvos) junto con el colágeno hidrolizado. De esta manera, el extracto de acerola comprendido en las composiciones secadas por pulverización comprende 100% de los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo del fruto de la acerola.

El fruto de la acerola es una drupa que comprende pericarpio y semillas. El pericarpio del fruto generalmente se subdivide en las capas epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El epicarpio comprende la piel del fruto. La pulpa

(carne) del fruto circunda la semilla. El extracto de fruto de acerola no contiene sustancialmente material derivado de la semilla, es decir, las semillas son por lo menos parcialmente eliminadas durante el procesamiento del fruto. De esta manera, el extracto de fruto de acerola es preferentemente un extracto de la pulpa del fruto de la acerola. El extracto de la pulpa del fruto de la acerola puede comprender o no compuestos derivados de la piel del fruto.

El material del fruto de la acerola habitualmente se pensará/exprimirá, triturará o picará inicialmente, conduciendo a la rotura de las paredes celulares de la planta. De esta manera, el extracto de fruto de acerola líquido para la utilización en el método de la invención puede ser, por ejemplo, un zumo de acerola, tal como un zumo de prensado/zumo exprimido de la acerola. En una forma de realización preferida, el extracto de fruto de acerola líquido es un zumo de acerola. En una forma de realización más preferente, el extracto de fruto de acerola líquido es un zumo prensado de acerola. Un zumo prensado se prepara mediante, por ejemplo, el exprimido mecánico o la maceración de los frutos, y opcionalmente filtrando el zumo. A continuación, el zumo prensado se embotella directamente o bien se almacena para la utilización posterior. Sin embargo, el extracto de fruto de acerola líquido también puede producirse a partir del bagazo de la acerola. Los modos de producir un extracto de fruto de la acerola para la utilización en el método de la invención (por ejemplo, un zumo prensado de acerola) son bien conocidos en la técnica.

El extracto de fruto de acerola para la utilización en el método de la presente invención se encuentra en forma líquida, es decir, es un extracto de fruto de acerola líquido. Aunque los diferentes términos "líquido" y "fluido" se utilizan en la presente memoria para discriminar entre composiciones líquidas/fluidas que comprenden acerola y colágeno hidrolizado, respectivamente, ello no debe implicar que los términos "líquido" y "fluido" poseen un significado diferente. De hecho, "líquido" y "fluido" presentan el mismo significado y podrían utilizarse intercambiamente.

En particular, el extracto de fruto de acerola líquido utilizado en el método de la invención no se encuentra en forma sólida, tal como en forma de unos polvos. Preferentemente, el extracto de fruto de acerola líquido presenta un contenido de humedad superior a aproximadamente 10% en peso, habitualmente superior a aproximadamente 20% en peso y preferentemente superior a aproximadamente 30% en peso. Es decir, el extracto de fruto de acerola líquido presenta un contenido de agua de 10% a 95%, de 20% a 80%, preferentemente de 30% a 70%, más preferentemente de 40% a 60% (en peso). En una forma de realización, el extracto de fruto de acerola líquido presenta un contenido de agua de 20% a 80% en peso. En una forma de realización preferida, el extracto de fruto de acerola líquido presenta un contenido de agua de 40% a 60% en peso. En una forma de realización particularmente preferente, el extracto de fruto de acerola líquido presenta un contenido de agua de aproximadamente 50% en peso. Los extractos líquidos de fruto de la acerola adecuados pueden obtenerse de diferentes fabricantes (por ejemplo, NutriBotanica (Brasil), Niagro - Nichirei do Brasil Agrícola Ltda. (Brasil), Fruteza Sucos Naturais Ltda. (Brasil)).

La expresión "extracto líquido" comprende extractos líquidos de acerola concentrados y no concentrados. Sin embargo, resulta preferente que el extracto de fruto de acerola líquido se concentre después del procedimiento de extracción anteriormente descrito. Los métodos para la concentración de extractos de frutos son conocidos en la técnica. Durante la concentración, se elimina el agua del extracto y pueden proporcionarse los compuestos ventajosos comprendidos en la acerola a una concentración todavía más elevada. De esta manera, en dicha forma de realización, el extracto de fruto de acerola líquido es un concentrado líquido de extracto de fruto de acerola. Por ejemplo, el extracto de fruto de acerola líquido puede ser un concentrado de zumo de acerola. Todas las propiedades del extracto de fruto de acerola líquido descritas en la presente memoria se refieren también al concentrado líquido de extracto de fruto de acerola. Entre los métodos para la concentración de extractos del fruto se incluyen, por ejemplo, la eliminación del agua mediante evaporación.

El procedimiento de concentración conducirá a un incremento del contenido de materia seca en el extracto de fruto de acerola líquido. En consecuencia, el concentrado líquido de extracto de fruto de acerola de la presente invención presenta preferentemente un contenido de materia seca de aproximadamente por lo menos 30% en peso, preferentemente de por lo menos 40% en peso, más preferentemente de por lo menos 50% en peso. Es decir, el concentrado líquido de extracto de fruto de la acerola preferentemente presenta un contenido de materia seca de 20% a 80% en peso, preferentemente de 30% a 70% en peso, más preferentemente de 40% a 60% en peso. En una forma de realización particularmente preferente, el concentrado líquido de extracto de fruto de acerola presenta un contenido de materia seca de aproximadamente 50% en peso.

El fruto de la acerola se ha considerado una de las fuentes naturales más importantes de vitamina C, con un contenido de vitamina C típicamente comprendido entre aproximadamente 1000 y 4500 mg por cada 100 g de pulpa (Boulangier y Crouzet, Food Chem., 74:209-216, 2001), es decir 1% en peso (p/p) a 4,5% en peso (p/p) de vitamina C. De acuerdo con lo anterior, el contenido de vitamina C en el extracto líquido concentrado de fruto de la acerola (es decir, el concentrado líquido de extracto de fruto de acerola) de la invención puede contener más de 17% en peso de vitamina C. En una forma de realización, el concentrado líquido de extracto de fruto de acerola de la invención comprende, por ejemplo, más de 34% en peso de vitamina C. El experto en la materia conocerá métodos para conservar el contenido de vitamina C en plantas de acerola, frutos y extractos del fruto de acerola,

por ejemplo evitando la presencia de oxígeno, iones de metal pesado, tales como cationes de cobre, plata y hierro, pH alcalino y temperaturas elevadas.

5 Resulta preferente que el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola utilizado en el método de la presente invención comprenda entre 1% y 40% en peso, preferentemente entre 4% y 30% en peso, más preferentemente entre 8% y 20% en peso de vitamina C. Resulta particularmente preferente que el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola comprenda entre 8% y 20% en peso de vitamina C. Es decir, el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola comprende por lo menos 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% en peso o más de vitamina C. Resulta particularmente preferente que el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola comprenda por lo menos 5% en peso de vitamina C. En una forma de realización preferida adicional, el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola comprende por lo menos 10% en peso de vitamina C. En todavía otras palabras, el extracto (concentrado) líquido de fruto de la acerola comprende aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% o 20% o más de vitamina C en peso.

15 Los elevados niveles de vitamina C en el extracto de fruto de acerola líquido utilizado en el método de la presente invención se conservan mediante secado por pulverización y, de esta manera, conducen a un nivel elevado de vitamina C también en la composición final secada por pulverización. De esta manera, la composición secada por pulverización según la presente invención comprende preferentemente de 0.1% a 20% en peso, preferentemente de 0.5% a 15% en peso, más preferentemente de 1% a 10% en peso, todavía más preferentemente de 2% a 7% en peso de vitamina C. Resulta particularmente preferente que la composición secada por pulverización comprenda de 2% a 7% en peso de vitamina C. Es decir, la composición secada por pulverización comprende por lo menos 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% o 6% en peso de vitamina C. Resulta particularmente preferente que la composición secada por pulverización comprenda por lo menos 1% en peso de vitamina C. En todavía otras palabras, la composición secada por pulverización comprende aproximadamente 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% o 6% en peso de vitamina C. En una forma de realización, la composición secada por pulverización comprende aproximadamente 4% en peso de vitamina C.

30 Los métodos para la detección del contenido de vitamina C en frutos y concentrado de frutos son bien conocidos en la técnica y se describen en, por ejemplo, Gensler et al., J. Agric. Food Chem., 43:2662-6, 1995. Por ejemplo, un método adecuado y utilizado frecuentemente es la HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento)

35 La expresión "vitamina C" tal como se utiliza en la presente memoria y que es conocida en la técnica se refiere a ácido ascórbico y derivados del mismo que presentan efectos equivalentes, es decir, derivados que presentan actividad de vitamina C, en mamíferos. Dichos derivados son, por ejemplo, ácido dehidroascórbico, ascorbato, ascorbato de calcio, ascorbato sódico y otras sales de ácido ascórbico. Es decir, la expresión "vitamina C" incluye todos los vitámeros de vitamina C. Los vitámeros de vitamina C poseen una actividad de vitamina C y generalmente también presentan estructuras moleculares similares. Los vitámeros de vitamina C son, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, ascorbato, ascorbato de calcio, ascorbato sódico y otras sales de ácido ascórbico.

45 La vitamina C es un cofactor (donador de electrones) en varias reacciones enzimáticas en el metabolismo de los mamíferos. Entre estas reacciones enzimáticas existen varias que están involucradas en la síntesis del colágeno. La "actividad de vitamina C" en el contexto de la presente invención no debe entenderse como referido a la actividad de la vitamina C que está involucrada en la síntesis del colágeno. Preferentemente, actividad de vitamina C se refiere a que puede servir como factor para enzimas que participan en la síntesis del colágeno, más preferentemente, a que puede servir como factor para la prolil-3-hidroxilasa, prolil-4-hidroxilasa y lisil hidroxilasa. Estos enzimas resultan necesarios para la hidroxilación de la prolina y la lisina durante la síntesis del colágeno.

50 Tal como se ha indicado anteriormente, las composiciones secadas por pulverización de los métodos de la presente invención, y generadas mediante los mismos, proporcionan niveles ventajosamente muy elevados de vitamina C natural. Por lo tanto, puede evitarse la incorporación de vitamina C sintética mediante la utilización de las composiciones secadas por pulverización indicadas en la presente memoria. Por lo tanto, resulta preferente que la composición secada por pulverización comprenda sustancialmente sólo vitamina C natural. La expresión "sustancialmente sólo" debe entenderse como un contenido de vitamina C sintética inferior a 5%, inferior a 4%, inferior a 3%, inferior a 2%, preferentemente inferior a 1% (en peso), más preferentemente inferior a 0.5% en peso, del contenido total de vitamina C. Preferentemente, la composición secada por pulverización presenta un contenido de vitamina C sintética inferior a 0.5% en peso del contenido total de vitamina C. Es decir, la composición secada por pulverización presenta un contenido de vitamina C sintética de aproximadamente 0% a aproximadamente 5% en peso, preferentemente de aproximadamente 0% a aproximadamente 2.5% en peso, más preferentemente de aproximadamente 0% a aproximadamente 0.1% en peso del contenido total de vitamina C. Sin embargo, resulta particularmente preferente que el extracto líquido de fruto de la acerola y/o la composición secada por pulverización no comprenda vitamina C sintética.

De esta manera, preferentemente, no se añade vitamina C sintética, por ejemplo antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b), durante el método de la presente invención. Lo anterior significa que no se añade vitamina C sintética pura ni composiciones que comprenden vitamina C sintética.

5 “Vitamina C natural” es vitamina C de origen natural, en particular vitamina C procedente de plantas y en particular de frutos. Son fuentes de vitamina C natural diferentes de los frutos de la acerola, por ejemplo, camu camu, naranjas, guayaba, pimienta roja o verde, kiwi, pomelo, coles de Bruselas, tomates, fresas, melón y similares. Sin embargo, no resulta necesario incluir vitamina C natural adicional en las composiciones secadas por pulverización debido a que el contenido de vitamina C natural en el fruto de la acerola es suficientemente elevado. Por lo tanto, la vitamina C natural comprendida en el extracto de fruto de acerola líquido y la composición secada por pulverización indicados en la presente memoria se deriva preferentemente de manera exclusiva de la acerola. En formas de realización adicionales, por lo menos 90% en peso, preferentemente por lo menos 95% en peso, o más preferentemente por lo menos 99% en peso de la vitamina C natural comprendida en la composición secada por pulverización se deriva de la acerola. Es decir, entre 90% y 100%, entre 95% y 100%, o entre 99% y 100% en peso de la vitamina C natural comprendida en la composición secada por pulverización se deriva de la acerola.

Resulta preferente que el extracto (concentrado) líquido del fruto de la acerola utilizado en el método de la presente invención comprenda entre 1% y 40% en peso, preferentemente entre 4% y 30% en peso, más preferentemente entre 8% y 20% en peso de vitamina C natural. Es decir, el extracto (concentrado) líquido de fruto de la acerola comprende por lo menos 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% en peso o más de vitamina C natural. Resulta particularmente preferente que el extracto (concentrado) líquido de fruto de la acerola utilizado en el método de la invención comprenda por lo menos 1% en peso de vitamina C natural.

Preferentemente, no se añade ninguna fuente de vitamina C natural aparte del extracto de fruto de acerola, antes o simultáneamente a la etapa de secado por pulverización en la etapa b) de los métodos de la presente invención. Lo anterior significa que no se añade vitamina C natural aislada pura ni extractos o composiciones que comprenden vitamina C natural además del extracto de fruto de acerola líquido.

Las expresiones “vitamina C sintética” y “vitamina C artificial” se utilizan como sinónimos y se refieren a vitamina C que ha sido sintetizada artificialmente, es decir, sintetizada por medios químicos, bioquímicos o biotecnológicos. Los métodos para la discriminación entre vitamina C natural y artificial son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la discriminación resulta posible mediante la realización de mediciones de isótopos estables de la vitamina C. Esto se basa en el fenómeno de que los compuestos naturales, tales como la vitamina C, del mismo origen presentan un patrón isotópico característico que puede expresarse como, por ejemplo, la proporción isotópica del carbono (valor  $\delta^{13}\text{C}$ ):

$$\text{Valor de } \delta^{13}\text{C} = \left( \left( \frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} \right) - \left( \frac{R_{\text{estándar}}}{R_{\text{estándar}}} \right) \right) / \left( \frac{R_{\text{estándar}}}{R_{\text{estándar}}} \right) * 1000(\text{‰}) \text{ en el que } R = \frac{[^{13}\text{C}]}{[^{12}\text{C}]}, \text{ para PDB} \\ = 0.011237.$$

PDB es el estándar de belemnita Pee Dee, originada a partir del fósil de *Belemnitella americana*, que presentaba una proporción  $^{13}\text{C}$ - $^{12}\text{C}$  anómalamente elevada y se fijó como  $\delta^{13}\text{C}$  igual a cero. Se ha confirmado en la técnica que los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , es decir, la proporción isotópica del carbono, del ácido L-ascórbico son característicos según su origen (Gensler et al., J. Agric. Food Chem., 43:2662-6, 1995). Por lo tanto, una comparación de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de la preparación de vitamina C con la  $\delta^{13}\text{C}$  normal de un origen particular, indica si la preparación de vitamina C procede parcial o completamente o no de ese origen. Se conocen de la técnica métodos adecuados para la determinación de las proporciones isotópicas. Por ejemplo, la proporción isotópica puede determinarse mediante un método tal como EA-IRMS (espectrometría de masas de afinidad electrónica-proporción isotópica).

Se entenderá que dicho método no sólo puede aplicarse a la proporción isotópica del carbono, sino también a proporciones isotópicas de otros elementos comprendidos en la vitamina C. Alternativa o adicionalmente, pueden determinarse los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  y/o  $\delta^2\text{H}$ , y/o los patrones isotópicos de la vitamina C, y compararse con los valores en el fruto de la acerola. En particular, un método adicional que resulta adecuado para la discriminación entre la vitamina C natural y sintética es la generación de patrones isotópicos de preparaciones de vitamina C.

Un método adicional que permite la discriminación entre vitamina C natural y artificial, es la medición posicional del carbono-13. La síntesis de ácido ascórbico a partir de azúcares vegetales y en procedimientos industriales incluye diferentes rutas metabólicas, conduciendo a una diferencia significativa en el carbono 13 en la posición 1 de los átomos de carbono.

El experto en la materia conoce que los métodos de aislamiento y análisis utilizados deberían encontrarse libres de efectos isotópicos. Cualquier desviación respecto de los estándares determinados indicará en ese caso una contaminación con ácido ascórbico artificial. El conocimiento del origen geográfico de la muestra no resulta absolutamente esencial, ya que la distribución isotópica de los diferentes componentes comprendidos en una preparación que contiene vitamina C está correlacionada. El análisis de la correlación isotópica de compuestos

adicionales en la preparación puede utilizarse, de esta manera, como estándar interno. Los métodos anteriormente indicados resultan adecuados para distinguir vitamina C natural y sintética, así como la vitamina C procedente de diferentes fuentes.

5 Las composiciones secadas por pulverización indicadas en la presente memoria y producidas mediante los métodos de la presente invención comprenden colágeno de tipo II hidrolizado. El colágeno es una proteína estructural característica que se encuentra principalmente, y que es el componente principal, en diferentes tejidos conectivos, tales como piel, hueso, cartilago y similares, de animales y seres humanos. Se han identificado 28 tipos diferentes de colágeno en los vertebrados, incluyendo colágenos fibrilares, reticulares, fibrillas de anclaje, FACIT (colágeno asociado a fibrillas con triples hélices interrumpidas), MACIT (colágeno asociado a membrana con triples hélices interrumpidas) y MULTIPIEXIN (múltiples dominios de triple hélice e interrupciones).

15 Característicamente, todos los tipos de colágeno forman fibrillas largas que están constituidas de tres cadenas polipeptídicas y están entrelazadas formando una triple hélice. Esta estructura está causada por un patrón particular de aminoácidos en la secuencia polipeptídica, que comprende cantidades particularmente elevadas de glicina (Gly), prolina (Pro) e hidroxiprolina (Hyp). Por ejemplo, el peso molecular medio de una única molécula de colágeno de tipo II es muy superior a 100 kDa.

20 El colágeno hidrolizado en las composiciones secadas por pulverización indicadas en la presente memoria y producido mediante los métodos de la presente invención es el colágeno de tipo II. El colágeno de tipo II es el componente principal del cartilago, tal como el cartilago articular e hialino. El colágeno de tipo II hidrolizado puede utilizarse como complemento alimenticio para mejorar la salud articular. El colágeno hidrolizado en las composiciones secadas por pulverización indicado en la presente memoria y producido mediante los métodos de la presente invención es, por lo tanto, colágeno de tipo II hidrolizado. El colágeno de tipo II, alfa 1, de Homo sapiens, presenta una longitud de aproximadamente 1400 aminoácidos, según la isoforma, y un peso molecular superior a 140 kDa. La expresión "colágeno de tipo II" tal como se utiliza en la presente memoria comprende todos los subtipos e isoformas de colágeno de tipo II.

30 El colágeno puede ser un colágeno derivado de un animal seleccionado de entre el grupo que consiste en aves, mamíferos y peces. Por ejemplo, el colágeno puede ser de un ave, tal como un ave seleccionada de entre el grupo que consiste en pollo, pavo y ganso. En una forma de realización preferida, el colágeno es colágeno de pollo. Alternativamente, el colágeno puede proceder de un mamífero, por ejemplo, seleccionado de entre el grupo que consiste en cerdos y vacas. Los métodos para la discriminación entre colágenos de diferentes orígenes son conocidos en la técnica, y entre ellos se incluyen, por ejemplo, un análisis de la secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, el colágeno de pescado presenta un contenido más bajo de prolina (Pro) e hidroxiprolina (Hyp) y una menor estabilidad térmica que el colágeno de mamífero.

40 Tal como se ha mencionado anteriormente, el colágeno de tipo II se encuentra principalmente en el cartilago. Por lo tanto, el fluido que comprende colágeno de tipo II hidrolizado según la etapa a) comprende material derivado de cartilago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado. En una forma de realización particularmente preferente, el fluido que comprende colágeno de tipo II hidrolizado según la etapa a) consiste sustancialmente en material derivado de cartilago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y agua, tal como agua con un pH entre 4 y 8.

45 El cartilago puede ser cartilago procedente de diferentes partes del animal, tales como, por ejemplo, el esternón, las aletas y las escápulas. En una forma de realización particularmente preferente, el cartilago es cartilago de esternón. En una forma de realización preferida adicional, el cartilago es cartilago de esternón de pollo. Resulta particularmente preferente que el colágeno sea colágeno de tipo II derivado de cartilago de esternón de pollo. Alternativamente, el cartilago también puede proceder de, por ejemplo, aletas de tiburón, o escápulas porcinas o bovinas. Los métodos para obtener el cartilago del cuerpo del animal son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en el caso de que se utilice cartilago de esternón de pollo en el método de la presente invención, se recorta cartilago de esternón fresco a partir de carcasas de pollo. Todas las partes cárnicas se extraen del cartilago y se corta el cartilago de manera que se deja un espacio de aproximadamente 2 mm hasta el hueso, a fin de evitar cualquier fragmento óseo. El cartilago puede almacenarse mediante congelación. Al evitar cualquier fragmento óseo, puede minimizarse la contaminación del colágeno de tipo II con colágenos de tipos I y III originados en el hueso. Sin embargo, se indica que cantidades menores de otros tipos de colágeno en los fluidos de la invención no perjudican la capacidad del colágeno de tipo II hidrolizado de actuar como portador de secado por pulverización para el extracto de fruto de la acerola. En una forma de realización, el fluido que comprende colágeno de tipo II de la etapa a) se encuentra sustancialmente libre de colágeno de tipo I y colágeno de tipo III.

60 El "material derivado de cartilago" debe entenderse como material que se ha obtenido a partir de cartilago mediante corte, despedazado, troceado, triturado, picado, dilución y/o disolución del cartilago y, opcionalmente, la concentración de la solución resultante, y similares. Además, el material derivado de cartilago según la invención se somete a un tratamiento de hidrólisis, tal como se describe en otros sitios de la presente memoria, antes de la utilización en la etapa de mezcla a). Lo anterior significa además que el material derivado de cartilago comprende preferentemente de manera esencial todos los componentes que estaban originalmente comprendidos en el cartilago, tal como, entre otros, colágeno de tipo II, condroitín sulfato y ácido hialurónico. Por lo tanto, el material

derivado del cartílago es una mezcla de diferentes compuestos comprendidos en el cartílago a partir de los que se deriva el material.

5 En una forma de realización de la invención, el material derivado de cartílago se ha preparado (obtenido) a partir de cartílago mediante hidrólisis del cartílago. El cartílago puede hidrolizarse como piezas enteras o cortarse en fragmentos más pequeños antes de la hidrólisis (tal como fragmentos con un diámetro aproximado de 1 mm a 5 mm, preferentemente de 2.5 mm a 2.5 cm, más preferentemente de 5 mm a 1 cm). La hidrólisis del cartílago puede llevarse a cabo mediante hidrólisis enzimática, mediante hidrólisis por calor, o la incubación con bases o ácidos. En una forma de realización preferida, la hidrólisis del cartílago se lleva a cabo mediante incubación con una proteasa, tal como mediante incubación con una o más proteasas seleccionadas de entre el grupo que consiste en papaína, ficina, bromelaína y endoproteasas, tales como alcalasa. En una forma de realización, el cartílago se suspende en una solución acuosa, preferentemente agua, antes de la hidrólisis. La suspensión en la solución acuosa puede llevarse a cabo durante por lo menos 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min o más. El material derivado de cartílago a continuación puede filtrarse, por ejemplo, a través de tierra diatomácea, antes de la utilización en la etapa a) del método de la invención. En una forma de realización preferida, el material derivado de cartílago se ha preparado (obtenido) a partir de cartílago mediante hidrólisis del cartílago y posterior filtración, en el que el filtrado es el material derivado de cartílago.

20 Preferentemente, las composiciones secadas por pulverización según la presente invención consisten en sustancialmente un extracto de frutos de acerola, material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato. En dicha forma de realización, las composiciones no comprenden compuestos o ingredientes adicionales, proporcionando de esta manera una concentración máxima de los compuestos beneficiosos comprendidos en el extracto de fruto de acerola y en el material derivado de cartílago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado. Lo anterior no excluye que las composiciones secadas por pulverización puedan contener cantidades menores de enzimas proteolíticas térmicamente inactivados residuales (como resultado del procedimiento de hidrólisis).

30 El colágeno "hidrolizado" en el contexto de la presente invención se refiere a colágeno que ha sido hidrolizado, por ejemplo hidrolizado enzimáticamente, es decir, cortado proteolíticamente, o hidrolizado por calor, incubación con bases o ácidos, o mediante otros métodos. Preferentemente, el colágeno se hidroliza con enzimas proteolíticas, tales como endoproteasas, exopeptidasas, o endoproteasas alcalinas y neutras. Los métodos y enzimas adecuados para la hidrólisis enzimática, así como las condiciones de reacción correspondientes, son bien conocidos en la técnica y pueden llevarse a cabo en el contexto de la presente invención antes de la etapa a) para preparar un fluido que comprende colágeno hidrolizado. Un método adecuado para la preparación de composiciones de colágeno hidrolizado se describe en, por ejemplo, la patente US nº 6.025.327 y en particular, el método para la preparación de colágeno de tipo II hidrolizado de cartílago de estornón de pollo que se describe en la misma. Brevemente, el cartílago que comprende colágeno de tipo II se recorta y suspende en fluido acuoso, tal como agua, durante aproximadamente una hora a aproximadamente 35°C. El fluido acuoso presenta un pH entre aproximadamente 4 y 8, preferentemente de aproximadamente 6.5. A continuación, el fluido que comprende cartílago se incuba con una o más proteasas durante aproximadamente 2 a 10 horas a aproximadamente 35°C a 55°C a un pH de entre 4 y 8.

45 Las proteasas adecuadas que son capaces de hidrolizar el colágeno son, por ejemplo, papaína, ficina, bromelaína y endoproteasas, tales como la alcalasa. De esta manera, el colágeno hidrolizado es preferentemente un hidrolizado seleccionado de entre el grupo que consiste en un hidrolizado de papaína, un hidrolizado de ficina, un hidrolizado de bromelaína, un hidrolizado de endoproteasas o una mezcla de los mismos. El experto en la materia será capaz de adaptar las condiciones de reacción de una manera que garantice que se obtiene el peso molecular medio deseado del colágeno.

50 Después de la hidrólisis, la longitud y, por consiguiente, el peso molecular de las moléculas de colágeno se ha reducido considerablemente. Los péptidos de colágeno acortados pueden ser asimilados y metabolizados eficientemente por el cuerpo humano. El colágeno hidrolizado según la presente invención preferentemente presenta un peso molecular medio de entre 0.1 y 13.5 kDa, más preferentemente de entre 0.5 y 5 kDa, lo más preferentemente de entre 1 y 2.5 kDa. En una forma de realización, el colágeno hidrolizado presenta un peso molecular medio de entre 0.5 y 5 kDa. Resulta particularmente preferente que el peso molecular medio sea de entre 1 y 2.5 kDa, preferentemente de entre 1.5 y 2.5. En una forma de realización similar, el peso molecular medio es de entre 1 y 1.5 kDa.

60 El fluido que comprende colágeno hidrolizado que se utiliza en los métodos de la presente invención puede comprender, por ejemplo, entre 5% y 50%, entre 8% y 45%, entre 10% y 40%, entre 15% y 35%, entre 12% y 30%, entre 20% y 30% (en peso) de colágeno hidrolizado. En una forma de realización preferida, el fluido comprende entre 12% y 30% en peso de colágeno hidrolizado. En otra forma de realización, el fluido comprende entre 20% y 30% en peso de colágeno hidrolizado. Estos porcentajes se refieren al contenido de materia seca de colágeno hidrolizado. En una forma de realización particularmente preferente, el fluido que comprende colágeno hidrolizado comprende aproximadamente 25% en peso de colágeno hidrolizado. Estos porcentajes se refieren al contenido de

colágeno de tipo II hidrolizado. Lo anterior significa que, por ejemplo, el fluido comprende entre 12% y 30% en peso de colágeno de tipo II hidrolizado, preferentemente entre 20% y 30% de colágeno de tipo II.

5 Tal como se indica de manera general a lo largo de la presente memoria, el material derivado de cartílago para la utilización en el método de la presente invención comprende sólo cantidades menores de otros colágenos, mientras que su ingrediente principal es colágeno de tipo II. Por lo tanto, se aplican valores similares a los definidos para el colágeno hidrolizado, anteriormente, también al contenido de material derivado de cartílago en el fluido utilizado. De esta manera, el fluido puede comprender, por ejemplo, entre 5% y 50%, entre 8% y 45%, entre 10% y 40%, entre 15% y 35%, entre 12% y 30%, entre 20% y 30% (en peso) de material derivado de cartílago. Estos porcentajes 12% a 30%, de 20% a 30% (en peso) de material derivado de cartílago. Estos porcentajes se refieren al contenido de materia seca de material derivado de cartílago. En una forma de realización preferida, el fluido comprende entre 15% y 35% en peso, más preferentemente entre 20% y 30% en peso de material derivado de cartílago. En una forma de realización particularmente preferente, el fluido comprende aproximadamente 25% en peso de material derivado de cartílago. Sin embargo, el fluido puede comprender además niveles más elevados de material derivado de cartílago, tales como 20% a 50% en peso.

Como consecuencia de dicha concentración en el fluido, las composiciones secadas por pulverización según la presente invención presentan, por ejemplo, una concentración de colágeno de tipo II hidrolizado de 40% a 90% en peso. Es decir, el colágeno hidrolizado se encuentra presente en las composiciones secadas por pulverización en una cantidad de entre 40 g/100 g y 90 g/100 g. En formas de realización adicionales, las composiciones secadas por pulverización comprenden entre 45% y 85%, preferentemente entre 50% y 80%, más preferentemente entre 55% y 75% de colágeno hidrolizado. Lo anterior significa que las composiciones secadas por pulverización comprenden por lo menos 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90% (en peso) de colágeno hidrolizado. En una forma de realización preferida, las composiciones secadas por pulverización comprenden por lo menos 40% de colágeno hidrolizado. En una forma de realización adicionalmente preferente, las composiciones secadas por pulverización comprenden por lo menos 60% de colágeno hidrolizado. Estos porcentajes se refieren al contenido de colágeno de tipo II hidrolizado. Por ejemplo, las composiciones secadas por pulverización pueden comprender por lo menos 40% de colágeno hidrolizado Tipo II.

30 El "fluido que comprende colágeno hidrolizado" para la utilización en el método de la invención presenta un contenido de materia seca de preferentemente 20% a 50% en peso. El fluido según la invención puede ser, por ejemplo, una solución, suspensión, dispersión o una mezcla de los mismos. En una forma de realización preferida, el fluido es una solución. Sin embargo, el término "solución" no debe entenderse como soluciones excluyentes, en las que los ingredientes (tales como colágeno hidrolizado o material derivado de cartílago) no se encuentran completamente disueltos. Las suspensiones que comprenden material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado se utilizan en la etapa a) del método de la presente invención.

Preferentemente, el fluido es un fluido acuoso. Resulta preferente que el fluido presente un pH de entre aproximadamente 3 y 8, preferentemente de entre 4 y 7, más preferentemente de aproximadamente 5.

40 La obtención de colágeno a partir de material de colágeno, tal como cartílago de esternón de pollo, proporciona la ventaja adicional de que el producto final también es rico en mucopolisacáridos, particularmente en condroitín sulfato. De esta manera, el fluido comprenderá por lo menos 5% en peso, más preferentemente por lo menos 10%, lo más preferentemente por lo menos 20% en peso de condroitín sulfato. De esta manera, según la invención, el fluido comprende por lo menos 5% en peso de condroitín sulfato. Es decir, el fluido comprende preferentemente entre 5% y 70% en peso, más preferentemente entre 10% y 50% en peso, lo más preferentemente entre 20% y 40% en peso de condroitín sulfato. Es decir, el fluido comprende por lo menos 50 g/l, y más preferentemente por lo menos 100 g/l de condroitín sulfato, por ejemplo, entre 50 g/l y 300 g/l.

50 Como consecuencia de dicha concentración en el fluido, las composiciones secadas por pulverización según la presente invención presentan, por ejemplo, una concentración de condroitín sulfato de 10% a 30%, preferentemente de 15% a 25% en peso. En una forma de realización, las composiciones secadas por pulverización presentan una concentración de condroitín sulfato de entre 10% y 30% en peso. Es decir, las composiciones secadas por pulverización comprenden por lo menos 10%, preferentemente por lo menos 15%, más preferentemente por lo menos 20% en peso de condroitín sulfato. En una forma de realización, de esta manera, las composiciones secadas por pulverización comprenden por lo menos 10% en peso de condroitín sulfato.

60 El método según la reivindicación 1 para la preparación de una composición secada por pulverización que comprende una etapa (a) de mezcla de un extracto líquido de fruto de acerola obtenido mediante prensado de un fruto de acerola, y un fluido que comprende material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y por lo menos 5% en peso de condroitín sulfato fluido. La mezcla incluye la adición del extracto del fruto al fluido que comprende colágeno hidrolizado, o viceversa. La mezcla incluye además la mezcla mutua de extracto y fluido que comprende colágeno hidrolizado que puede llevarse a cabo mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica, tal como mediante difusión, removido, enrollado o agitación.

Dependiendo de las propiedades deseadas para la mezcla secada por pulverización, tal como el contenido de vitamina C o el contenido de colágeno hidrolizado, el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado pueden mezclarse en diferentes proporciones. Por ejemplo, se ha demostrado en los ejemplos descritos en la presente memoria que el rendimiento del procedimiento de secado por pulverización es máximo en una determina proporción de mezcla. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de entre 0.1:100 y 65:100, preferentemente de entre 1:100 y 55:100, o más preferentemente de entre 10:100 y 30:100, tal como, por ejemplo, de aproximadamente 40:100 en la etapa a). En una forma de realización, el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de 1:100 a 55:100 en la etapa a). En una forma de realización particularmente preferente, el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de entre 10:100 y 30:100 en la etapa a). Dichas proporciones son proporciones del peso total.

La expresión respecto al contenido de materia sólida del extracto líquido de fruto de la acerola y del fluido que comprende colágeno hidrolizado se refieren a que el extracto líquido de frutos de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción (materia sólida:materia sólida) de entre 5:100 y 70:100, preferentemente de entre 1:100 y 65:100, más preferentemente de entre 10:100 y 60:100, tal como de entre aproximadamente 14:100 y aproximadamente 28:100, o de aproximadamente 50:100 (comparar la sección de ejemplos en otro sitio de la presente memoria). De esta manera, en una forma de realización el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de materia sólida de entre 1:100 y 65:100 en la etapa a). En una forma de realización particularmente preferente, el extracto líquido de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de materia sólida de entre 10:100 y 60:100 en la etapa a). La expresión "contenido de materia sólida" (de otro modo conocido como "materia seca" o "peso seco") es una medida de la masa cuando se encuentra completamente seca. Esto significa que el agua ha sido eliminada esencialmente por completo al medir el contenido de materia sólida. Los métodos para la determinación del contenido de materia sólida de extractos de fruta y otros líquidos son conocidos en la técnica.

En particular, la proporción de mezcla también afecta al contenido de vitamina C en el producto final. Por lo tanto, en otra forma de realización, el extracto de fruto de acerola líquido y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de aproximadamente 10:100. De esta manera, se consigue una concentración final de vitamina C de aproximadamente 4% en peso. Tal como puede observarse, la proporción de mezcla óptima difiere dependiendo del resultado deseado, por ejemplo de si se desea un rendimiento elevado y/o una concentración particular de vitamina C.

El extracto líquido de fruto de la acerola y/o el fluido que comprende colágeno hidrolizado pueden filtrarse antes de la mezcla en la etapa a). El experto en la materia conocerá métodos de filtración adecuados, tales como los métodos de filtración estéril. Por ejemplo, el hidrolizado puede filtrarse a través de tierra diatomácea o mediante filtración al vacío.

Finalmente, el método de la presente invención comprende una etapa (b) de secado por pulverización de la mezcla. Se conocen de la técnica y se utilizan rutinariamente métodos de secado por pulverización y aparatos de secado por pulverización adecuados (comparar, por ejemplo, Patel et al., Ind. J. Sci. Techn., 2(10):44-47, 2009). Un ejemplo de un aparato de secado por pulverización adecuado es el modelo estándar 6-12 (European SprayDry Technologies, Essex, Reino Unido), que pueden dotarse de, por ejemplo, una boquilla de presión 60-68 (Spraying Systems Co., Hamburg, Alemania). El secado por pulverización implica 3 procedimientos fundamentales: atomización de líquido, evaporación y separación/recolección del producto seco. El material que debe secarse se pulveriza, en forma de gotas pequeñas, en una cámara de secado vertical. Simultáneamente, se alimenta un volumen elevado de gas caliente (aire) en la cámara para evaporar el contenido líquido de la muestra. La transferencia de calor y masa tiene lugar al entrar en contacto directo las gotas dispersadas con el aire caliente. El experto en la materia podrá seleccionar temperaturas de entrada y salida adecuadas, tales como, por ejemplo, 180°C y 80°C, respectivamente. Se han utilizado dichas temperaturas en los ejemplos descritos en otro sitio de la presente memoria y, de esta manera, resultan preferentes en formas de realización de la invención. De esta manera, preferentemente, el secado por pulverización en la etapa b) se lleva a cabo con una temperatura de entrada de entre 160°C y 200°C, más preferentemente de entre 170°C y 190°C. La utilización de una temperatura de entrada de aproximadamente 180°C en la etapa b) resulta particularmente preferente. Además, el secado por pulverización en la etapa b) preferentemente se lleva a cabo con una temperatura de salida de entre 60°C y 100°C, más preferentemente de entre 70°C y 90°C. La utilización de una temperatura de salida de aproximadamente 80°C en el secado por pulverización durante la etapa b) resulta particularmente preferente. Tras completar el secado, se separa el aire caliente y los sólidos. El producto seco se transfiere desde la base de la cámara y se transfiere a un ciclón de alta eficiencia en donde se separan los polvos y el gas de secado. En una forma de realización preferida, la mezcla se seca por pulverización utilizando una boquilla de presión de tamaño 60 a 68. El tamaño de partícula y malla finales se ajustan a 0.46 g/cm<sup>3</sup>. De esta manera se garantiza un rendimiento de polvos finos.

Preferentemente, no se añaden excipientes adicionales (tales como agentes de suspensión, agentes de dispersión o humectación, es decir, sustancias diferentes del extracto de fruto de la acerola y el fluido que comprende colágeno de tipo II derivado de cartílago hidrolizado y condroitín sulfato) antes, durante o después de la etapa a).

5 En particular, debido a que la presente invención inesperadamente ha identificado colágeno hidrolizado como portador de secado por pulverización adecuado para el extracto de fruto de acerola, no resulta necesario añadir portadores de secado por pulverización adicionales (también conocidos como “adyuvantes de secado”) normalmente utilizados en la técnica, tales como un portador anfipático, maltodextrina, dextrina, almidón oxidado, lactosa, sílice de combustión (“fumed silica”) (tal como de tipo Aerosil®), goma del árbol del anacardo, goma arábica o similares. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, no se añade ningún portador de secado por pulverización diferente del colágeno hidrolizado antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b). Es decir, resulta preferente que no se añada ningún portador de secado por pulverización diferente del material derivado de cartílago antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b). Expresado de otra manera, no se añade ningún otro portador de secado por pulverización aparte de los compuestos comprendidos en el material derivado de cartílago o potencialmente comprendidos en el extracto de fruto de acerola, antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b). Por ejemplo, no se añade ningún portador anfipático, dextrina, almidón oxidado, lactosa, sílice de combustión, goma del árbol del anacardo o goma arábica antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b).

20 En la técnica, con frecuencia se utilizan polisacáridos, tales como maltodextrina, dextrina, almidón oxidado, lactosa y similares, a modo de portadores de secado por pulverización. De esta manera, en una forma de realización particularmente preferente, la expresión “portador de secado por pulverización” debe entenderse como “polisacárido”. En la presente forma de realización, no se añade ningún polisacárido (aparte de los polisacáridos potencialmente comprendidos en el material derivado de cartílago o el extracto de fruto de acerola) antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b). En particular, no se añade maltodextrina, lactosa y/o almidón oxidado antes o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la invención proporciona una composición secada por pulverización, que comprende o que consiste en (a) el material derivado de cartílago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato, y (b) el extracto de fruto de acerola. Se entenderá que la composición secada por pulverización (tal como la composición preparada mediante el método descrito en la presente memoria) son unos polvos, tal como unos polvos con los tamaños de partícula indicados en otro sitio en la presente memoria. En una forma de realización preferida, la composición secada por pulverización consiste en (a) el material derivado de cartílago que comprende el colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato, y (b) el extracto de fruto de acerola. Tal como se ha indicado anteriormente, la expresión “extracto de fruto de acerola” se refiere a una mezcla de todas las sustancias comprendidas en el zumo del fruto de la acerola y no se refiere a vitamina C aislada por sí sola.

Preferentemente, la composición secada por pulverización no comprende ningún portador de secado por pulverización aparte de los compuestos comprendidos en el material derivado de cartílago o (potencialmente) comprendidos en el extracto de fruto de acerola. En particular, dicha composición secada por pulverización comprende o consiste en (a) el material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y condroitín sulfato, y (b) el extracto de fruto de acerola, y no comprende maltodextrina, almidón oxidado y/o lactosa. Resulta adicionalmente preferente que la composición secada por pulverización no comprenda ningún portador de secado por pulverización seleccionado de entre el grupo que consiste en maltodextrina, dextrina, almidón oxidado, lactosa, sílice de combustión (tal como de tipo Aerosil®), goma de árbol del anacardo y/o goma arábica, y similares. Además, resulta preferente que la composición no comprenda ningún portador anfipático. En una forma de realización preferida, la composición no comprende ningún polisacárido que no esté originado en el fluido que comprende colágeno hidrolizado o el extracto de fruto de acerola líquido. En particular, la composición no comprende maltodextrina, lactosa y/o almidón oxidado.

Las concentraciones deseadas de los diferentes componentes de las composiciones secadas por pulverización según la invención se indican en detalle de manera general en otro sitio en la presente memoria. Sin embargo, se subraya que resulta preferente que la composición comprenda entre 20% y 50% en peso de colágeno de tipo II hidrolizado. La composición comprende además por lo menos 5% en peso de condroitín sulfato, preferentemente por lo menos 10% en peso, por lo menos 15% en peso o por lo menos 20% en peso de condroitín sulfato.

Debido a que es una ventaja de la invención que proporcione los productos denominados de etiquetado limpio con un contenido elevado de vitamina C natural, en determinadas formas de realización, la composición secada por pulverización (a) comprende por lo menos 0.1% en peso de vitamina C natural, (b) no comprende ninguna fuente de vitamina C natural aparte del extracto de fruto de acerola, tal como un extracto de arándano y/o (c) no comprende ninguna vitamina C sintética. Preferentemente, la composición secada por pulverización (a) comprende por lo menos 0.1% en peso de vitamina C natural y (c) no comprende vitamina C sintética. Más preferentemente, la composición secada por pulverización (a) comprende por lo menos 1% en peso de vitamina C natural, y (c) no comprende vitamina C sintética. Esto significa que, en una forma de realización particularmente preferente, la composición secada por pulverización comprende por lo menos 0.1% en peso de vitamina C natural, preferentemente por lo menos 1% en peso, más preferentemente por lo menos 3% en peso. Es decir, la composición secada por pulverización comprende

preferentemente entre 0.1% y 40% en peso de vitamina C natural, más preferentemente entre 1% y 20% en peso de vitamina C natural. Otros contenidos preferentes de vitamina C se han indicado de manera general en otro sitio en la presente memoria. En una forma de realización preferida adicional, la composición secada por pulverización no comprende ninguna fuente de vitamina C natural aparte del extracto de fruto de acerola. Por ejemplo, la composición no comprende otros extractos de frutos, tales como extracto de arándano. Preferentemente, la composición secada por pulverización no comprende vitamina C sintética.

En otro aspecto, la invención se refiere a un complemento alimenticio según la reivindicación 10 que comprende la composición secada por pulverización indicada en la presente memoria. Un complemento alimenticio es una composición comestible que comprende por lo menos la composición secada por pulverización de la presente invención. El complemento alimenticio resultado adecuado para la ingestión como producto alimenticio, complemento nutritivo, complemento de pienso animal o nutracéutico.

El complemento alimenticio se encuentra en forma sólida, tal como unos polvos, gránulos, comprimidos y similares. De esta manera, en una forma de realización preferida, el complemento alimenticio son unos polvos. En otra forma de realización, el complemento alimenticio es un comprimido. Además, el complemento alimenticio también puede encontrarse en forma líquida, tal como una solución acuosa o de aceite, emulsión y similares, tal como en una cápsula o una bebida. La composición secada por pulverización (que es soluble en agua) puede disolverse en el complementario alimenticio líquido. El complemento alimenticio también puede presentar la forma de gelatina, refrigerios o barras nutritivas.

Se da a conocer una utilización no terapéutica de una composición secada por pulverización indicada en la presente memoria o un complemento alimenticio indicado en la presente memoria para mejorar la salud del cartílago y articular en un individuo. Las composiciones secadas por pulverización preferentemente están destinadas a la utilización como complemento alimenticio, más preferentemente para la utilización como complemento alimenticio para mejorar la salud del cartílago y articular en un individuo. Los métodos para la evaluación de la salud del cartílago y articular son bien conocidos en la técnica. Una mejora de la salud del cartílago y articular se asocia con frecuencia, por ejemplo, a un incremento de la movilidad y flexibilidad de la articulación. Dicha mejora puede ser experimentada subjetivamente por el individuo que ha recibido la composición misma.

Se proporciona además una utilización no terapéutica de una composición secada por pulverización indicada en la presente memoria o un complemento alimenticio indicado en la presente memoria para reducir las arrugas en la piel, en particular, las arrugas en la piel inducidas por el sol, y/o para incrementar la flexibilidad de la piel. De esta manera, las composiciones secadas por pulverización pueden resultar útiles como complemento alimenticio para la utilización en la reducción de las arrugas en la piel, en particular las arrugas en la piel inducidas por el sol y/o para incrementar la flexibilidad de la piel.

Además, se proporciona una utilización no terapéutica de una composición secada por pulverización indicada en la presente memoria o de un complemento alimenticio indicado en la presente memoria como agente profiláctico en un individuo sano. De esta manera, las composiciones secadas por pulverización pueden resultar de utilidad como complemento alimenticio para la utilización como agente profiláctico en un individuo sano. Un individuo "sano" en el contexto de la presente invención es uno que no sufre visible o sensiblemente de una enfermedad o condición que puede mejorarse mediante la complementación con colágeno hidrolizado.

Para dichos usos no terapéuticos, las composiciones secadas por pulverización o complementos alimenticios preferentemente se ingieren por vía oral. Sin embargo, la administración entérica e intragástrica también resultan posibles. En todos los usos no terapéuticos, la administración es preferentemente en un individuo sustancialmente sano.

Preferentemente, en dichos usos no terapéuticos, las composiciones secadas por pulverización y complementos alimenticios se administran a dosis diarias de colágeno hidrolizado de 500 mg a 10,000 mg, más preferentemente de 1000 mg a 5000 mg. En una forma de realización particularmente preferente, las composiciones secadas por pulverización y complementos alimenticios se administran a dosis diarias de colágeno hidrolizado de 1 g a 5 g.

En otro aspecto, la invención tal como se presenta en la reivindicación 9 se refiere a las composiciones secadas por pulverización indicadas en la presente memoria para la utilización en un método de tratamiento o prevención de trastornos o enfermedades del tejido conectivo que se beneficiarían de una síntesis incrementada de cartílago.

Adicionalmente, en un aspecto adicional, la invención tal como se presenta en la reivindicación 9 se refiere a un método para el tratamiento o prevención de trastornos o enfermedades del tejido conectivo que se beneficiarían de una síntesis incrementada de cartílago.

Los trastornos o enfermedades del tejido conectivo que se beneficiarían de una síntesis incrementada del cartílago se seleccionan, por ejemplo, del grupo que consiste en enfermedades articulares degenerativas (tales como la artritis reumatoide), los defectos articulares, la osteoartritis, la policondritis, las enfermedades vasculares, las lesiones del cartílago, las enfermedades autoinmunitarias que implican autoanticuerpos del tejido conectivo (tales como la artritis reumatoide), la miopía progresiva, la enfermedad de Menier y cualquier otro trastorno del tejido

conectivo que se beneficiaría de la síntesis incrementada de cartílago. En una forma de realización particularmente preferente, las composiciones secadas por pulverización resultan de utilidad en un método de tratamiento o prevención de la artritis reumatoide.

- 5 La administración puede llevarse a cabo mediante cualesquiera medios conocidos en la técnica, por ejemplo mediante administración oral, entérica o intragástrica. La administración oral resulta particularmente preferente.

10 La composición secada por pulverización se administra en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Una "cantidad farmacéuticamente eficaz" es una cantidad que resulta útil en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección. Los métodos para la evaluación de una mejora de la comodidad articular y similares son bien conocidos en la técnica.

15 La administración puede llevarse a cabo en un líquido seleccionado por el paciente (ya que la composición secada por pulverización es soluble en agua) o en forma de comprimido. Antes de la administración, la composición secada por pulverización puede disolverse en la solución o suspensión líquida o la composición puede utilizarse con agentes estabilizadores, excipientes, agentes de carga o surfactantes fisiológicamente apropiados, o combinaciones de los mismos. Entre los ejemplos de excipientes adecuados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, tampones, modificadores de la viscosidad u otros aditivos terapéuticamente inactivos, aunque funcionales.

20 Por ejemplo, la dosis de la composición secada por pulverización puede seleccionarse de una manera que garantice una dosis diaria de 2 g de hidrolizado de colágeno (de tipo II). La eficacia de una dosis de 10 g (sin extracto de fruto de acerola) fue demostrado por, por ejemplo, Clark et al. (Curr. Med. Res. a Opin, 24(5): 1485-96, 2008). En contraste con el hidrolizado de colágeno aislado utilizado en dicha referencia, la presente invención proporciona composiciones que comprenden varios compuestos que resultan cruciales para la regeneración del cartílago. Además, los compuestos, en particular el colágeno hidrolizado (de tipo II) y la vitamina C, ya se encuentran presentes en una proporción de mezcla ideal. Ventajosamente, la presente composición secada por pulverización resulta por lo tanto más eficaz que los hidrolizados de colágeno estándares y puede, de esta manera, administrarse en la dosis más baja anteriormente mencionada (2 g de hidrolizado de colágeno (de tipo II)/día). La administración puede llevarse a cabo, por ejemplo, durante 24 semanas consecutivas, tal como han demostrado Clark et al. (Curr. Med. Res. a Opin, 24(5): 1485-96, 2008), o durante 6 meses, tal como han demostrado Benito-Ruiz et al. (Int. J. Food Sci. Nutr., 60(S2): 99-113, 2009). Se ha demostrado en la técnica que los pacientes con una ingesta baja de carne y por lo tanto una ingesta relativamente baja de colágeno en la dieta, se benefician en mayor medida de la administración de colágeno hidrolizado que los pacientes con una ingesta de carne elevada. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, el paciente o persona sana que recibe el tratamiento o ingiere el complemento alimenticio es una persona con ingesta baja o nula de carne durante el periodo de ingestión de las composiciones secadas por pulverización.

### 35 Ejemplos

La presente invención se ilustra mediante los ejemplos a continuación.

#### 40 Ejemplo 1: extracto de fruto de acerola

Se adquirió concentrado de zumo de acerola (BMgLC-18-219) de NutriBotanica (Brasil). Según el folleto de información del producto, el concentrado comprendía más de 18 mg/100 ml de vitamina C y presentaba un pH de entre 2.8 y 4.5. El olor, sabor y apariencia fueron evaluados mediante ensayos organolépticos y se clasificaron como "característicos".

#### Ejemplo 2: preparación de cartílago hidrolizado de esternón de pollo

50 Se preparó cartílago hidrolizado de esternón de pollo tal como se indica en la patente US nº 6.025.327. Brevemente, se cortó cartílago esternal fresco de pollo a no menos de aproximadamente 2 mm del hueso y el cartílago se suspendió en agua con un pH de entre 4 y 8. A continuación, la solución de cartílago se hidrolizó enzimáticamente. El hidrolizado se esterilizó (mediante calentamiento a 95°C durante aproximadamente 30 minutos) y se filtró en un filtro-prensa de bastidor con tela de filtro a caballete (polipropileno, Marsyntex). Para una segunda etapa posterior de filtración, se utilizaron capas de filtro con un límite de separación de 6.0 a 15.0 µm (tipo SK200, filtro StrassBurger). Después, se concentró el hidrolizado hasta una concentración de 20% a 50% (en peso) de contenido de materia sólida bajo vacío. El cartílago de esternón de pollo hidrolizado comprendía aproximadamente 60% (en peso, % de peso seco) de colágeno de tipo II.

#### 60 Ejemplo 3: preparación de una mezcla secada por pulverización de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y fruto de acerola

65 Se mezcló concentrado de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y concentrado de acerola, preparados tal como se ha indicado anteriormente, en diferentes proporciones (100:10, 100:20, 100:40 y 100:70, respectivamente). A continuación, la mezcla se secó por pulverización utilizando una boquilla de presión de tamaño 60-68 (Spraying Systems Co., Hamburg, Alemania), temperatura de entrada de aproximadamente 180°C,

temperatura de salida de aproximadamente 80°C en un sistema de secado por pulverización concurrente de etapa simple (modelo estándar 6-12, European SprayDry Technologies, Essex, Reino Unido).

5 Durante el procedimiento de secado por pulverización, aparecen dificultades debido a la unión y/o adhesión producida por el concentrado de acerola. Se ha encontrado que la proporción de concentrado de acerola e hidrolizado de colágeno resulta importante para conseguir un buen resultado, es decir, para conseguir el rendimiento más alto con el contenido de vitamina C deseado.

10 1. Prueba de producción

Se homogeneizaron y secaron por pulverización 100 kg de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y 10 kg de concentrado de zumo de acerola. La temperatura de entrada era de aproximadamente 180°C; la temperatura de salida era de aproximadamente 80°C. El rendimiento de producto final fue de 32 kg.

15 2. Prueba de producción

Se homogeneizaron y secaron por pulverización 100 kg de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y 20 kg de concentrado de zumo de acerola. La temperatura de entrada era de aproximadamente 180°C; la temperatura de salida era de aproximadamente 80°C. El rendimiento de producto final fue de 34 kg.

20 3. Prueba de producción

Se homogeneizaron y secaron por pulverización 100 kg de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y 40 kg de concentrado de zumo de acerola. La temperatura de entrada era de aproximadamente 180°C; la temperatura de salida era de aproximadamente 80°C. El rendimiento de producto final fue de 42 kg.

25 4. Prueba de producción

30 Se homogeneizaron y secaron por pulverización 100 kg de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y 70 kg de concentrado de zumo de acerola. La temperatura de entrada era de aproximadamente 180°C; la temperatura de salida era de aproximadamente 80°C. Esta prueba tuvo que detenerse debido a la unión durante el procedimiento de secado. El rendimiento de producto final fue de 2.8 kg.

35 La primera prueba de producción utilizando una mezcla de 100 kg de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y 10 kg de acerola mostró los mejores resultados con respecto al contenido de vitamina C y, por ejemplo, la finura de los polvos, aunque la 2ª y 3ª pruebas de producción también proporcionaron buenos resultados.

40 **Ejemplo 4: análisis de la mezcla secada por pulverización de cartílago hidrolizado de esternón de pollo y concentrado de fruto de la acerola obtenida de la prueba de producción nº 1**

Tras el secado por pulverización de la mezcla de 100 kg de colágeno hidrolizado y 10 kg de acerola, se recibieron unos polvos finos con resultados según la especificación deseada, es decir, que presentaban el contenido de vitamina C deseado. Puede encontrarse la especificación del producto en la Tabla 1.

45 Tabla 1: especificación de producto para composición secada por pulverización que comprende colágeno de tipo II derivado de cartílago y extracto de fruto de acerola (abreviaturas: Ph.Eur.: farmacopea europea; mod.: modificado; o.d.b.: en base seca; USP: farmacopea US; % = % en peso)

Artículo nº	KN-30-5-1-300	
Materias primas:	Cartílago de esternón de pollo; acerola	
Parámetro de ensayo	Método de ensayo	Especificación
Descripción:	Visual	Polvos amorfos
Color:	Visual	beige
Olor:	Organoléptico	neutra
Solubilidad: (1% en peso en H <sub>2</sub> O)	Visual	soluble en agua
Cenizas:	A400 / Ph. Eur. 2.2.16 mod.	max. 10,0 % o.d.b.
Lípidos:	F100	max. 2,0 % o.d.b.
Nitrógeno (Kjeldahl):	S200 / Ph. Eur. 2.5.9	min. 8 % o.d.b.
Pérdida en el secado (2 h, T=105°C)	T400 / Ph. Eur. 02/02/2032	max. 5,0 %
pH (1% en H <sub>2</sub> O):	P400 / Ph. Eur. 2.2.3 mod.	4,0- 6,0
Densidad aparente:	Ph. Eur. 2.2.42	0,40 - 0,55 g/ml

## ES 2 768 988 T3

Artículo nº	KN-30-5-1-300	
Materias primas:	Cartílago de esternón de pollo; acerola	
Densidad compactada:	Ph. Eur. 02/02/2042	0,50 - 0,65 g/ml
Condroitín sulfato:	basado en USP 32	Min. 16%
Vitamina C:	HPLC	~ 4%

Puede observarse que el contenido de condroitín sulfato se encontraba dentro de las especificaciones deseadas, es decir, por lo menos 16% en peso. El contenido de vitamina C era de aproximadamente 4% en peso. El análisis adicional de la mezcla se muestra en las Tablas 2 a 4:

5

Tabla 2: contenido de metales pesados en la mezcla secada por pulverización obtenida de la prueba de producción nº 1 (es decir, 100 kg de colágeno hidrolizado y 10 kg de extracto de fruto de acerola) La determinación se llevó a cabo mediante ICP-OES tras la preparación mediante presión de microondas. Lote nº FD-040530172.

10

Metales pesados	mg/kg
Arsénico	0,02
Cadmio	<0.005
Cromo	<0.003
Mercurio	<0,03
Estaño	<0,03
Plomo	<0,01
Antimonio	<0,007

Tabla 3: contenido de aminoácidos en la mezcla secada por pulverización obtenida en la prueba de producción nº 1 Se llevó a cabo el análisis de aminoácidos con un analizador de aminoácidos LC3000 (Eppendorf-Biotronik) utilizando técnicas de intercambio de cationes con un gradiente de cinco etapas y derivación poscolumna con ninhidrina y detección fotométrica a 440 nm/570 nm. Lote nº FD-040530172

15

Aminoácidos	µg/mg	
Taurina	0,78	
Hidroxiprolina	35,65	
Asparagina	38,00	
Treonina	17,50	
Serina	14,53	
Ácido glutámico	70,68	
Prolina	47,99	
Glicina	84,30	
Alanina	38,88	
Cisteína	2,67	
Valina	18,50	
Metionina	8,91	
Isoleucina	13,54	
Leucina	26,60	
Tirosina	7,03	
Fenilalanina	14,52	
β-Alanina	8,27	
Triptófano	0,35	
Histidina	10,36	
3-metil-histidina	11,93	
hidroxilisina	7,85	
Lisina	21,95	
NH <sub>3</sub>	11,50	
Arginina	39,19	

Tabla 4: contenido de diferentes tipos de azúcar en el producto final, es decir, la mezcla secada por pulverización obtenida en la prueba de producción nº 1 Método: HPLC; Lote nº: FD-040530172.

20

Fructosa	1,4	g/100 g
Glucosa	4,3	g/100 g
Sacarosa	1,3	g/100 g
Maltosa	<0,5	g/100 g
Lactosa	<0,5	g/100 g

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Método para preparar una composición secada por pulverización que comprende un extracto de fruto de acerola y colágeno hidrolizado, comprendiendo el método las etapas de:
- (a) mezclar un extracto de fruto de acerola líquido obtenido mediante prensado de un fruto de acerola y un fluido que comprende material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado y por lo menos 5% en peso del condroitín sulfato fluido,
- 10 (b) secar por pulverización la mezcla.
2. Método según la reivindicación 1, en el que no se añade ninguna vitamina C sintética antes de o simultáneamente al secado por pulverización en la etapa b).
- 15 3. Método según la reivindicación 1 o 2, en el que el fluido comprende de 20% a 50% en peso de colágeno hidrolizado.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el extracto de fruto de acerola líquido y el fluido que comprende colágeno hidrolizado se mezclan en una proporción de 5:100 a 70:100 con respecto a los contenidos de materia sólida del extracto y el fluido en la etapa a).
- 20 5. Composición secada por pulverización obtenible de acuerdo con el método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende:
- 25 (a) material derivado de cartílago que comprende colágeno de tipo II hidrolizado, condroitín sulfato; y
- (b) extracto de fruto de acerola que comprende vitamina C y todos los diferentes compuestos que están comprendidos en el zumo del fruto de acerola.
- 30 6. Composición secada por pulverización según la reivindicación 5, en la que la composición no comprende ningún portador de secado por pulverización aparte de colágeno hidrolizado.
7. Composición secada por pulverización según la reivindicación 5 o 6, en la que la composición no comprende ningún portador de secado por pulverización seleccionado de entre el grupo que consiste en maltodextrina, dextrina, almidón oxidado, lactosa, sílice de combustión, goma del árbol del anacardo y goma arábiga.
- 35 8. Composición secada por pulverización según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en la que la composición:
- 40 (a) comprende por lo menos 0,1% en peso de vitamina C natural;
- (b) no comprende ninguna fuente de vitamina C natural aparte del extracto de fruto de acerola; y/o
- (c) no comprende ninguna vitamina C sintética.
9. Composición secada por pulverización según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 para la utilización en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad que se beneficiaría de una síntesis aumentada de cartílago, tal como la artritis.
- 45 10. Complemento alimenticio que comprende una composición secada por pulverización según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el complemento alimenticio se encuentra en forma sólida tal como un polvo, un gránulo o un comprimido.